

# **Der Abbau der Kinine im Organismus**

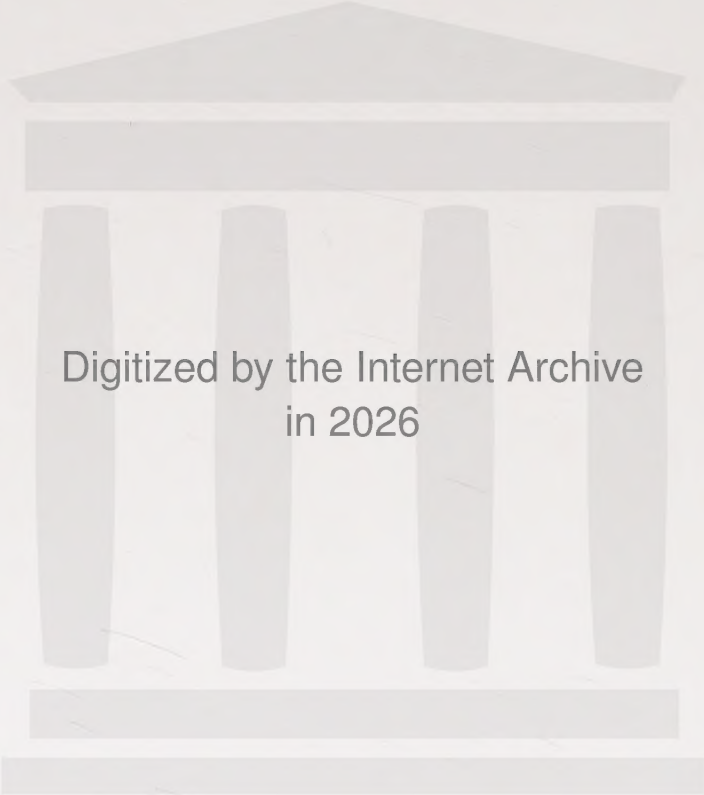
**Versuch der Charakterisierung von Kinin-abbauenden  
Enzymen in Organen des Hundes**

**Brigitte Praetorius-Höh**  
**—**

**1974**  
**—**







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41551921\\_0081](https://archive.org/details/IA41551921_0081)

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie  
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. E. Werle

Der Abbau der Kinine im Organismus

Versuch der Charakterisierung von Kinin-abbauenden Enzymen  
in Organen des Hundes

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Brigitte Praetorius-Höh  
aus Berlin

1974

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. phil. E. Werle

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.5.1974



## Inhaltsverzeichnis

|                                              | Seite: |
|----------------------------------------------|--------|
| A. Einleitung                                | 1      |
| B. Hauptteil                                 |        |
| Theoretischer Teil                           | 2      |
| 1. Kallikrein                                | 2      |
| 2. Kininogen und Kinin                       | 4      |
| 3. Physiologie der Kinine                    | 5      |
| 4. Zur Bedeutung im pathologischen Bereich   | 6      |
| 5. Kininasen                                 | 8      |
| 6. Vorkommen der Kininasen                   | 9      |
| 7. Inhibitoren der Kininasen                 | 11     |
| Experimenteller Teil                         | 12     |
| 8. Kallikreinaktivitätsbestimmung            | 12     |
| 9. Kiniaktivitätsbestimmung                  | 12     |
| 10. Aufarbeitung der Organe                  | 12     |
| 11. Versuchsanordnung                        | 13     |
| 12. Eichung des Rattenuterus mit Kallidin    | 13     |
| 13. Beschreibung der Ansätze                 | 14     |
| 14. Beschreibung der verwendeten Inhibitoren | 14     |
| 15. Aktivitätsmessung                        | 15     |
| C. Ergebnisse                                | 16     |
| Kininaseaktivität der Organe:                |        |
| 1. Leber                                     | 16     |
| 2. Lunge                                     | 21     |
| 3. Niere                                     | 26     |
| 4. Darm                                      | 31     |
| 5. Hirn                                      | 36     |
| 6. Milz                                      | 41     |
| 7. Erythrozyten                              | 46     |
| 8. Plasma                                    | 51     |
| D. Diskussion                                | 58     |
| E. Zusammenfassung                           | 60     |



## A. Einleitung

Der Ablauf von Vorgängen im Organismus ist an ein sehr verwickeltes System gebunden. Das Funktionieren dieses Systems ist durch komplizierte Regulationsmechanismen gewährleistet. Im Wesentlichen sind es zwei Systeme, das humorale und nervale, die miteinander verbunden sind oder einander ergänzen. Dabei spielen die Freisetzung und Ausschüttung besonderer Wirksubstanzen eine entscheidende Rolle.

In das Gebiet solcher "Gewebshormone" gehören auch die Kinine. Die Kinine sind biologisch hochaktive Stoffe, die erst vor wenigen Jahrzehnten entdeckt worden sind. Im historischen Ablauf ist 1925 die Auffindung einer blutdrucksenkenden Substanz im Harn durch E.K. Frey bedeutsam. Dabei handelt es sich um Kallikrein, dessen Enzymnatur erst einige Jahre später durch Werle (1936) erkannt wurde als er feststellte, daß Harnkallikrein aus Serum eine darmkontrahierende Substanz aktiviert (2). Dieses erste aufgefundene Kinin erhielt 1947 die Bezeichnung Kallidin (3). Erst zehn Jahre danach fand Rocha e Silva, daß auch Trypsin zur Freisetzung eines Kinins führt, das den Darm etwas langsamer zur Kontraktion bringt als Histamin oder Acetylcholin, weswegen die Substanz Bradykinin benannt wurde (4). Diese freigelegten Stoffe sind aus hochmolekularen Eiweißen abgespaltene Polypeptide, die durch Extrakte aus zahlreichen Organen abgebaut werden können.

Aufgabe dieser Arbeit war es, die wahrscheinlich unterschiedlichen "Kininasen" in den einzelnen Organen in ihrer Aktivität zu erfassen und womöglich zu differenzieren.

## B. Hauptteil

### Theoretischer Teil

Man bezeichnet Enzyme, die zur Freisetzung von Kininen führen, als Kininogenasen und ihre Vorstufen als Praekininogenasen. Die Freisetzung der Kininogenasen erfolgt durch Praekallikreinasen. Kininogene sind hochmolekulare Eiweißkörper, aus denen die Kinine enzymatisch liberiert werden. Als Kininasen bezeichnet man eine Reihe von Enzymen, die einen Abbau der Kinine bewirken, die selbst Spaltprodukte darstellen.

### Kallikrein

Das Vorkommen dieser Kininogenase im Organismus ist vielfältig. Viele der Kininogen spaltenden Enzyme waren schon längst bekannt, bevor man wußte, daß sie auch Kinine freisetzen können.

Teilweise liegen die Kininogenasen selbst in einer inaktiven Vorstufe im Organismus, d. h. im Blut und in den Organen vor und müssen erst selbst auf enzymatischem Wege zu aktiven Enzymen übergeführt werden, wobei viele der Vorgänge nicht abgeklärt sind und vor allem die physiologische Bedeutung noch wenig oder gar nicht bekannt ist.

Im Pankreas der Säugetiere findet man das sogenannte Praekallikrein (5, 6) und in geringen Mengen aktives Kallikrein. Die Vorstufe des Kallikreins ist wahrscheinlich zusammen mit der des Trypsins und des Chymotrypsins in den Zymogengranula des Pankreas vorhanden und wird in den Darm im Sekret abgegeben, was durch Stimulationsversuche des Pankreas durch Pankreozymin oder Sekretion ergeben haben (7).

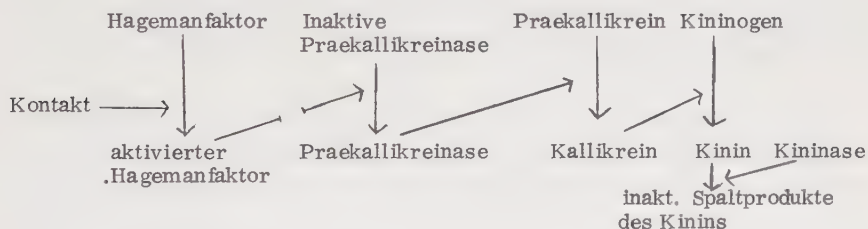
Ein weiteres Organkallikrein wurde in den Mundspeicheldrüsen der G. submandibularis, sublingualis und parotis gefunden. Hier kommt es im Gegensatz zum Pankreas nur in aktiver Form vor (8). Durch Differentialzentrifugation von Zellhomogenaten wurde auch hier Kallikrein in Granula gefunden, die den Zymogengranula des Pankreas entsprechen (9). Es wird vermutet, daß die Bildungsstätte des Speicheldrüsenkallikreins der acinäre Teil des Organs ist (10).

Vom physiologischen Standpunkt aus erscheint auch das Vorkommen von Kallikrein bzw. dessen Vorstufe im Darm und im Magen von einiger Bedeutung (11, 12).

Auch die Nieren enthalten eine Praekininogenase, die durch verschiedene Manipulationen wie Inkubation mit proteolytischen Enzymen freigesetzt werden

kann (11, 12) und wahrscheinlich mit Kallikrein oder kallikreinähnlichen Enzymen identisch ist. Aktives Kallikrein wird auch regelmäßig im Harn ausgeschieden (13, 14).

Wesentlich interessanter als das organgebundene Vorkommen von Kallikrein ist seine Anwesenheit als Vorstufe im Blut (15) aus einem besonderen Grund. Im Blut zumindest erscheinen die Voraussetzungen für ein physiologisches funktionelles System von Kallikrein und Kinin offensichtlich. Die Voraussetzungen für ein Zusammenwirken sind insofern gegeben als im Blut Kallikrein-freisetzende Enzyme, das Praekallikrein, ein großer Vorrat an Kininogen und Kinin-abbauender Enzyme vorliegen. Die Freilegung von Plasmakallikrein im Blut oder Plasma kann allein durch Verdünnung oder Oberflächenkontakt erfolgen. Es muß also keine weitere Substanz zugeführt werden, das System bedarf lediglich eines Anstoßes (16, 17, 18, 19).



Schema der Aktivierung von menschl. Plasmakallikrein  
mod. nach Webster (20).

Im Blut wird durch den physikalischen Anstoß eine relativ komplizierte Reaktion ausgelöst (20). Die Reaktionskette beginnt mit der Freisetzung des Hagemanfaktors, der zu einer Umwandlung der inaktiven Praekallikreinase zur aktiven Form führt, wobei die Praekallikreinase dem Permeabilitätsfaktor (Pf/dil) entspricht. Die Reaktion verläuft dann weiter mit der Aktivierung des Praekallikreins zum Kallikrein durch den Permeabilitätsfaktor. Das Kallikrein seinerseits setzt am Kininogen Kinin als letztlich erst biologisch aktive Substanz frei.

Kallikreine haben eine ausgesprochen spezifische proteolytische und esterolytische Aktivität. Die Kinin-liberierende Aktivität ist mit der proteolytischen Aktivität gleichzusetzen. Dies unterscheidet sämtliche Kallikreine von den übrigen Kininogenasen, sie wirken nur gegenüber ihrem ganz spezifischen Substrat, dem

Kininogen des Serums als echte Proteinase. Die esterolytische Aktivität der Kallikreine, die der wie bereits beschrieben Kinin-bildenden Aktivität parallel geht kann mit den folgenden Substraten (in der Reihenfolge zunehmender Spaltgeschwindigkeit) gemessen werden: N - Acetyl - L - tyrosinaethylester, N - Toluolsulfonyl - L - arginin - methylester, N - Benzoyl - L - arginaethylester (BAEE) (10).

Die gemeinsame Grundlage der Definition der Kallikreine ist die Wirkung der Blutdrucksenkung.

Eine Differenzierung der Kallikreine untereinander gelingt mit der Hemmung durch spezifische Inhibitoren, eine unterschiedliche Geschwindigkeit bei der Spaltung von Aminosäureestern, ein unterschiedliches Verhalten bei der Isolierung und Reinigung, immunologische Eigenschaften und letztlich in einer Bausteinanalyse. Da die Wirkung der Kallikreine relativ ähnlich ist hat man auch Grund zur Annahme, daß das aktive Zentrum einander gleicht.

Markiertes Diisopropylfluorophosphat (DFP) ergab dem Serin im Kallikreinmolekül benachbart - Gly - Asp - Ser - Gly - (21).

Andere Kininogenasen, d. h. die Enzyme, die eine Freisetzung von Kininogen bewirken sind nicht so substratspezifisch wie die Kallikreine. Trypsin und Schlangengift (letzteres enthält auch viele Proteinasen) setzen aus einer Plasmafraktion - einer Pseudoglobulinfraktion Bradykinin frei. Auch Bakterienproteinasen setzen Kinin frei. Alle liberieren vorwiegend nur ein Nonapeptid. Im Gegensatz dazu legen die Kallikreine aus dem Kininogen ein Dekapeptid frei (22, 23, 24, 25).

### Kininogen und Kinin

Die Kinine sind im Organismus meist nur als inaktive Vorstufen nachweisbar. Den größten Kininogengehalt weist das Blut aller untersuchten Säugetiere auf. Der historische Vorläufer aller Kinine war die darmkontrahierende Substanz (DS), die sich bei der Einwirkung von Kallikrein auf Blutplasma ergab. Sie erhielt später den Namen Kallidin. Als Bradykinin wurde die mit Trypsin aus Blutplasma aktivierbare Substanz bezeichnet.

Die wechselseitige Erschöpfbarkeit der Kininvorstufe durch verschiedene Kininbildende Enzyme spricht für eine identische Vorstufe für Kallidin und Bradykinin (26, 27, 28). Es scheint jedoch in geringer Menge unterschiedliche Vorstufen zu geben, da nach Erschöpfung des Substrates durch Pankreaskallikrein

noch geringe Mengen Kinin-9-lieferndes Material vorhanden war, das sich durch Trypsin freilegen ließ (29). Auch andere Autoren beschreiben zwei verschiedene Kininogenstrukturen (30, 31, 32, 33, 34).

Weitere Kinine und deren Vorstufen konnten in Milch (Colostrokinin) und in Amphibienhaut gefunden werden (35, 36).

Die Reindarstellung und Strukturauflärung von Kininogenen ist durch das große Molekulargewicht mit großen Schwierigkeiten verbunden. Man versuchte zunächst, das Molekül in Bruchstücke zu zerlegen und mit sogenannten Minimalsubstraten für die Kininogenasen zu arbeiten. Dabei wird die Kettenlänge des Kininogenmoleküls so reduziert, daß eine Abspaltung der Kinine noch möglich war (37, 38, 39). Man verwendete dazu Pepsinspaltprodukte aus der Pseudoglobulinfraktion. Die dem Kinin dabei benachbarte Struktur der niedermolekularen Peptide wird von Hochstrasser und Werle mit Ser - Arg - Met - Lys - Kinin-9 und Gly - Arg - Met - Lys - Kinin-9 bei der Einwirkung von Kallikrein angegeben (39).

Trypsinbehandlung von niedermolekularen Kininogenbruchstücken führt zur Struktur

Met - Lys - Bradykinin - Ser - Val - Glu - NH<sub>2</sub> (29, 40).

Die Größenordnung des Molekulargewichtes von Kininogen wurde zu 50 000 bestimmt (41). Kininogen ist ein saures  $\alpha$ -Glykoprotein (28).

Das Bradykinin hat folgende Aminosäuresequenz:

H - Arg - Pro - Pro - Gly - Phe - Ser - Pro - Phe - Arg - OH (42, 43).

Das Kallidin, das durch Kallikrein aus dem Kininogen freigesetzt wurde setzt sich aus folgender Aminosäuresequenz zusammen:

H - Lys - Arg - Pro - Pro - Gly - Phe - Ser - Pro - Phe - Arg - OH (44, 25).

Die Kinine werden einander durch ihre pharmakologischen Eigenschaften zugeordnet. Die wesentlichen pharmakologischen Wirkungen sind die Erregung glatter Muskulatur, periphere Gefäßerweiterung, Blutdrucksenkung und Schmerzerzeugung sowie die Erhöhung der Kapillarpermeabilität und der Coronardilatation (45).

#### Physiologie der Kinine:

Eine physiologische Funktion der Kinine ist noch keineswegs bewiesen. Man kann aber an indirekten Hinweisen eine solche wenigstens vermuten. Die Kinine sind im menschlichen Urin vorhanden. Hier wäre unter Umständen eine Regulation der Nierendurchblutung bzw. eine allgemeine Durchblutungsregulierung zu vermuten. Möglicherweise bedeuten die Kinine auch bei den sekretorischen Drüsen, Speichel-

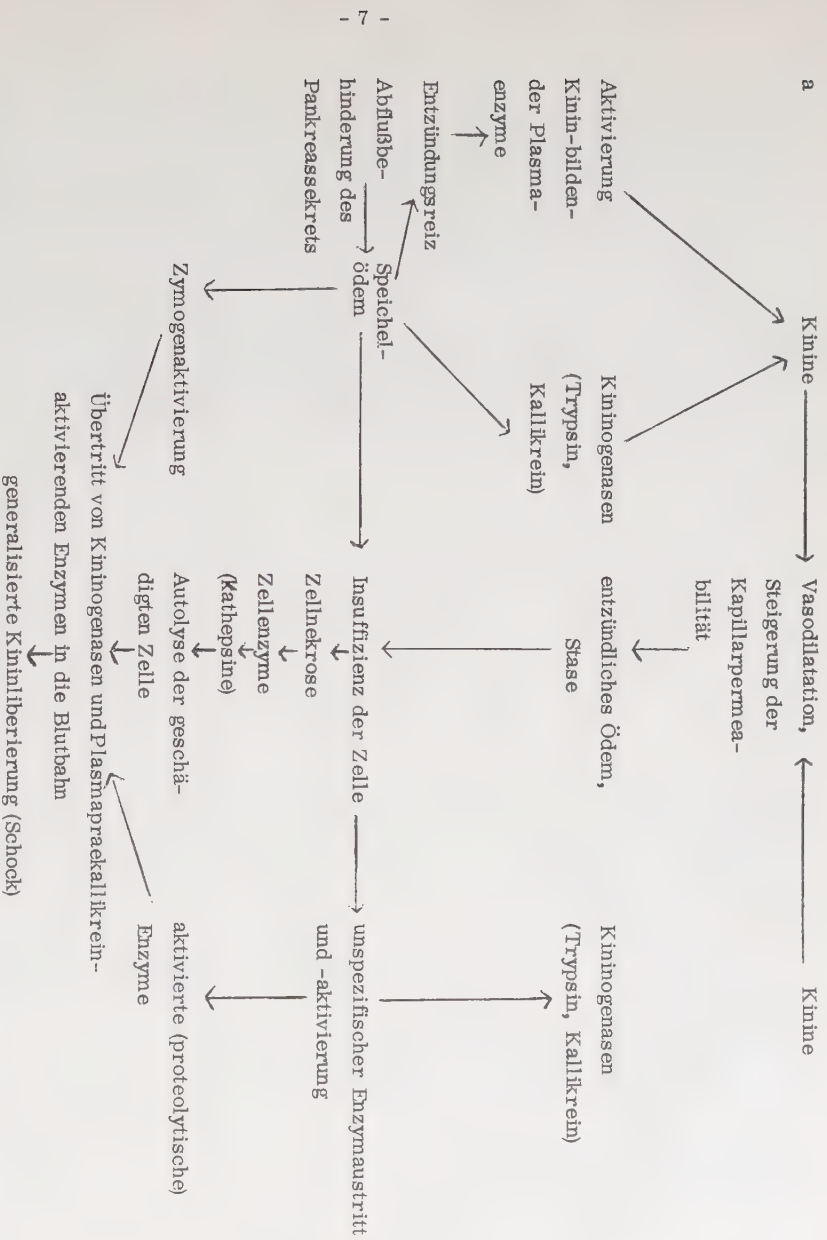
und Schweißdrüsen ein regulierendes Prinzip (46).

#### Zur Bedeutung im pathologischen Bereich

Es werden wohl auch im gesunden Organismus zeitweilig ganz lokal begrenzte Gerinnungsereignisse in der Blutbahn vorkommen, vielmehr aber noch bei pathologischen Prozessen, wie einer akuten Pankreatitis, bei der auch ein Übertritt von aktivem Trypsin in die Blutbahn diskutiert wird.

Bei der Gerinnung aber wird Kinin automatisch freigesetzt und es kann lokal die Gefäße erweitern und ein größeres thromboembolisches Ereignis vermeiden oder mindern.

Die Tatsache, daß Kinine alle Hauptsymptome der Entzündung rubor-dolor-calor-tumor hervorrufen können, läßt eine Rolle der Kinine bei den Vorgängen der Entzündung vermuten (47). Auch bei der akuten Pankreatitis spielen die Kinine wie aus dem nachstehenden Schema hervorgeht eine nicht unbedeutende Rolle (48).



Schematische Darstellung der bei der Pankreatitis ablaufenden pathophysiologischen Reaktionen.

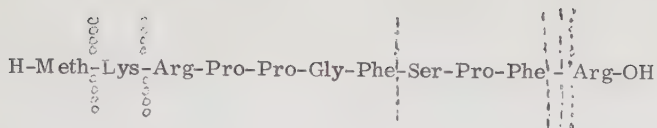
Die gefährvollste Wirkung der Kinine im pathophysiologischen Geschehen besteht wohl in einer generalisierten Kininwirkung, die zum Schock führt. Eine solche generalisierte Kininfreisetzung wird aber bei einer ganzen Reihe von pathophysiologischen Prozessen diskutiert. Experimentell konnte das Auftreten freier Kinine im Blut von Hunden mit anaphylaktischem und Pepton-Schock nachgewiesen werden (49). Auch beim hämorrhagischen und Endotoxin-Schock soll das Kallikrein-Kininsystem beteiligt sein. Auch andere Schockformen führten zu einer Verminderung des Kininogenspiegels des Blutes (50, 51, 52, 53). Interessant ist auch der Nachweis großer Kallikreinsmengen bei Carcinoidmetastasen und die Erhöhung der Blutkininspiegel bei Carcinoidpatienten während eines durch Adrenalin erzeugten Flush (54, 55).

#### Kininasen:

Daß die Kinine trotz ihrer intensiven biologischen Aktivität solange unbekannt blieben ist nicht zuletzt auf den raschen Abbau durch die Kininasen zurückzuführen, wodurch sie dem Nachweis entzogen wurden. Es ist bei einer physiologischen und pathophysiologischen Funktion der Kinine ein Fließgleichgewicht anzunehmen, wodurch ein fortbestehender Wechsel in Bildung und Abbau der Kinine wahrscheinlich ist.

Die Stoffe, die für eine Inaktivierung der gebildeten Kinine sorgen können sind enzymatischer Natur. Im Serum und Plasma vieler Säuger wurden große Mengen von Kininasen festgestellt (56). Die Inaktivierung erstreckt sich gleichermaßen auf Kallidin und Bradykinin (57, 58, 59). Enzyme, die Kinine abbauen sind zum Teil Peptidhydrolasen. Carboxypeptidase A aus Pankreas mit 3 Isoenzymen können Kinin abbauen. Die von Erdös (60, 61, 62) aus Serum isolierte Carboxypeptidase N ist als eine weitgehend spezifische Kininase anzusehen. Einen weiteren Hinweis auf die Natur der Kininasen gaben Werle und Mitarbeiter (63), die einen raschen Kallidinabbau durch Pankreasextrakte der Wirkung von Chymotrypsin, Carboxypeptidasen und Amino-peptidasen zuschrieben.

Auf nachstehendem Schema sind die Angriffspunkte einiger Kininasen bei Kinin 9, 10 und 11 aufgezeigt (62, 63, 64, 65, 66, 67).



-.-.-.- Chymotrypsin bei Kinin 9 und 11

..... Carboxypeptidase des Plasmas bei Kinin 9 und 10

----- Carboxypeptidase der Niere bei Kinin 9 und 10

ooooooooo Aminopeptidase des Plasmas bei Kinin 10 und 11

Angriffspunkte einiger Kininasen bei Kinin 9, 10 und 11.

## Vorkommen der Kininasen

## Blut

Fast sämtliche Bestandteile des Blutes enthalten aktive Kinasen. Man findet sie in Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten und im Blutplasma (68). Blutplasma und Serum von verschiedenen Spezies bauen Kinin in unterschiedlichen Raten ab. Durch Serum von Meerschweinchen können vergleichsweise relativ große Mengen Kinin abgebaut werden (69, 70, 71). Erst nachdem die Peptide in synthetischer Form vorlagen konnten die Vorgänge bei der Inaktivierung genauer untersucht werden. Von Erdös (72,73) wurde das erste kininaktivierende Enzym näher charakterisiert. Er fand es in der Fraktion IV -1 von menschlichem Plasma. Er bezeichnete es als Carboxypeptidase N. Die Inaktivierung oder der Abbau konnte durch verschiedene Chelatbildner (68, 69, 74) verhindert werden, sodaß anzunehmen war, daß die Carboxypeptidase abhängig von Metallionen ist.

Die Kinaseaktivität im Blut kann unter physiologischen und pathologischen Bedingungen sich verändern (75). Besonders interessant ist auch die Feststellung von Effkemann (76) und E. Werle und Erdös et al (77), daß es im Verlauf der Schwangerschaft zu einem signifikanten Anstieg der Kininasenaktivität kommt. Erdös konnte in weiteren Arbeiten (68, 78) die Existenz zweier Kininasen im Blutplasma nachweisen und sie aufgrund ihrer unterschiedlichen Reaktion gegenüber Inhibitoren wie Chelatbildnern und durch die Aufklärung unterschiedlicher

Angriffspunkte bei der Spaltung des Kininmoleküls differenzieren.

### Blutzellen

Hämolysierte Erythrozyten vermögen Kinin bei neutralem pH rasch abzubauen (68). Dieses Enzym unterscheidet sich von dem des Blutplasmas durch eine unterschiedliche Reaktion gegenüber Inhibitoren (z. B.  $\text{CoCl}_2$ , PCMS). Das Kinin aus Leukozyten von Menschen und Kaninchen ist gleichfalls nicht identisch mit dem Kinin des Blutplasmas (79, 80, 81).

### Pankreas

Bereits 1937 wurde von Werle et al (69) nachgewiesen, daß auch Gewebshomogenate Kinin zu inaktivieren vermögen. Besonders aktiv erwiesen sich Homogenate aus Pankreas, Niere und Lunge (82, 83, 84).

Die kininabbauende Eigenschaft des Pankreashomogenates wurde drei Enzymen zugeschrieben und zwar dem Chymotrypsin, einer Aminopeptidase und einer Carboxypeptidase. Spätere Untersuchungen von Erdös ergaben, daß die Carboxypeptidase B einer besonders aktiven Kininase entspricht (85).

### Niere

Die kininspaltende Aktivität der Niere ist wesentlich höher als im Blut oder in der Leber. Aus Schweinenieren wurden drei Kininasen teilweise gereinigt und charakterisiert (68, 86). Eine davon ist eine Imidopeptidase.

### Übrige Organe und Körperflüssigkeiten

Auch in vielen weiteren Organen wurden Kininasen festgestellt, so in der Leber, Milz, Lunge, Gehirn und Lymphdrüsen (69, 83, 84).

Außer im Blut wurden in anderen Körperflüssigkeiten Kininaseaktivitäten gefunden: im Urin, in der Galle, in der Cerebrospinal- und Synovialflüssigkeit, in der Lymphe sowie im Colostrum (87 - 92).

Schlangengifte enthalten außer Kininogenasen auch Kininasen. Sie können voneinander durch Erhitzen unterschieden werden (93, 94). *Clostridium histolyticum* vermögen ebenfalls Bradykinin zu inaktivieren.

### Inhibitoren der Kininasen

Die Vielzahl der Kininasen und ihr ubiquitäres Vorkommen erforderten eine einfache Methode, um eine Differenzierung dieser Substanzen voneinander zu ermöglichen. Natürlich wäre bei sonst gleicher Substratspezifität eine Strukturanalyse der Enzyme der eindeutigste Beweis. Der Aufwand wäre jedoch beträchtlich. Eine einfache Möglichkeit, wenigstens angenähert das Gleiche zu erreichen ist die Verwendung von Inhibitoren der Kininasen, die eine große Bedeutung in der Kininforschung erreicht haben. Auch hier war eine grundlegende Arbeit von Werle und Grunz (95) wegweisend. Sie fanden, daß Cystein die Aktivität von Kallidin in Blut und Serum schützen. Systematische Untersuchungen über die Hemmbarkeit von Kininasen wurden erstmals von Erdös begonnen und weitergeführt (72, 73, 96). Ein Großteil der Inhibitoren gehört zu den Chelatbildnern. So kommt zum Beispiel dem EDTA bei den Kininasen eine große Bedeutung zu. Die Empfindlichkeit der Kininasen gegenüber Schwermetallionen ist verschieden. Mit dieser Eigenschaft ist zum Beispiel eine Differenzierung der Kininase I gegenüber der Kininase II aus menschlichem Plasma möglich (78).

Auch Verbindungen, die eine Strukturähnlichkeit mit den Hydrolyseprodukten von Kininasensubstraten aufweisen können Kininasen inaktivieren.

Zu dieser Gruppe von Hemmstoffen gehört das Arginin und Benzoylarginin, das die Carboxypeptidase B des menschlichen Blutes hemmt. Die gleiche Substanz vermag jedoch die Kininase II des Plasmas nicht zu inaktivieren.

Eine andere kininasehemmende Stoffgruppe reagiert mit der SH - Gruppe von Enzymen. Zu dieser gehört z. B. das PCMB (Erdös et al 62).

Auch in der vorliegenden Arbeit wurde im wesentlichen versucht, die Kininasen aus tierischen Organen mit Inhibitoren zu erfassen und damit zu differenzieren. Außerdem wurden die Organe auf ihre Kininaseaktivität untersucht. Auf diesem Wege sollte die Bedeutung einzelner Organe im Kininasesystem erfaßt werden.

## Experimenteller Teil

### Kallikreinaktivitätsbestimmung

Die Bestimmung der Kallikreinaktivität erfolgt entweder enzymatisch oder biologisch. Das Maß der enzymatischen Methode ist die Spaltungsgeschwindigkeit von Benzoyl-L-arginin-äthylester, wobei eine enzymatische Kallikreineinheit als die Menge von Kallikrein bezeichnet wird, die ein Mikromol in einer Minute umsetzt (10, 98). Bestimmt man die Kallikreinaktivität biologisch, so mißt man die Blutdrucksenkung beim Hund nach i. v. Injektion. Eine biologische Einheit Kallikrein ändert den Carotidruck um denselben Wert wie 5 ml Menschenharn aus einer Sammelprobe von mind. 50 Liter, die 24 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert wurde (87).

### Kininaktivitätsbestimmung

Die Aktivität der Kinine läßt sich nur mit biologischen Methoden nachweisen. Man verwendet entweder dazu die Blutdruckänderung am Hund wie für Kallikrein oder aber die Kontraktionsgröße von isoliertem Rattenuterus. Als eine Kinineinheit ist die Menge eines Kinins definiert, die am isolierten Rattenuterus die gleiche Kontraktion auslöst wie  $1\mu\text{g}$  synthetisches Bradykinin (99). Nach Zugabe von 0,05 bis 0,1  $\text{m}\mu\text{g} / \text{ml}$  Bradykinin kontrahiert sich der isolierte Rattenuterus bereits. die geringste noch nachweisbare Kininkonzentration beträgt am Rattenuterus  $0,1 \times 10^{-9} \text{ g/ml}$ .

### Aufarbeitung der Organe

Wir untersuchen Leber, Niere, Lunge, Milz, Erythrozyten, Plasma, Hirn und Darm vom Hund. Die Organe wurden entblutet und mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült. 5 Gramm Organ wurden mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung homogenisiert. Die Homogenisierung erfolgte im Ultra-Turrax mit einem Metallzerkleinerer. Anschließend wurde das Homogenat mit physiologischer Kochsalzlösung weiter verdünnt. Die Verdünnungen wurden wegen der unterschiedlichen Kininase-Aktivität und Konsistenz bei den einzelnen Organen verschieden, wie nachstehend gewählt:

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Lunge und Leber | 1:300  |
| Niere           | 1:1000 |

|          |       |
|----------|-------|
| Dünndarm | 1:100 |
| Milz     | 1:3   |
| Hirn     | 1:100 |

Plasma wurde unverdünnt untersucht.

Mit 1 normaler NaOH wurde das Organhomogenat auf pH 7,6 eingestellt.

Die Erythrozyten wurden folgendermaßen aufbereitet:

Hundblut wurde 4:1 mit Natriumcitrat 3,8 %ig gemischt und zentrifugiert:

|            |             |
|------------|-------------|
| 1000 U/min | 25 min lang |
| 1500 U/min | 25 min lang |
| 2000 U/min | 20 min lang |
| 2500 U/min | 20 min lang |
| 3000 U/min | 15 min lang |
| 3000 U/min | 15 min lang |

Das Zentrifugat wurde jeweils dekantiert und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Nach insgesamt 6 Zentrifugierungen zeigte der Überstand keine Kininaseaktivität mehr. Die abzentrifugierten Erythrozyten wurden dann mit gleicher Menge destilliertem Wasser hämolysiert. Dann wurde 1 ml Hämolysat mit 3 ml TRA-Puffer 7,8 und 6 ml physiologischer Kochsalzlösung vermischt.

### Versuchsanordnung

Der Uterus bicornis der Ratte wurde von einem Unterbauchschnitt her ausgelöst und in der Mitte geteilt. Das abgeschnittene Ende einer Uterushälfte wurde in ein Bad mit Jalon-Lösung eingespannt und die Kontraktion nach Kiningabe auf ein Kymographion übertragen. Die Jalon'sche Lösung wurde nach jeder Inkubation des Uterus mit dem zu testendem Substrat erneuert. Damit wurde der Uterus von anhaftenden Substratteilchen wieder befreit. Der Inkubator mit dem Uterus wurde auf eine Temperaturkonstanz von 37,5 °C eingestellt. Zur Sauerstoffversorgung des Uterus wurde von unten her Luft durchgeperlt und zwar in solcher Menge, daß auch eine schnelle Verteilung der Zusätze gewährleistet wurde.

### Eichung des Rattenuterus mit Kallidin

Zur Eichung der Uteruskontraktion verwendeten wir synthetisches Kallidin, das in einer Konzentration von 20 E/ml vorlag. Die Verdünnung mit aqua dest. ergab eine Lösung, die pro ml 1 E Kinin enthielt.

### Beschreibung der Ansätze

Im ersten (Haupt-) Ansatz wurde die Kininaseaktivität bestimmt.

Im zweiten (Haupt-) Ansatz wurde der Wirkungsverlust der Organ-Enzyme durch verschiedene Enzymhemmer untersucht.

Den Leerwert stellt die Eichung mit Kallidin dar.

Das Gesamtvolumen der Ansätze betrug immer 3 ml.

- 1) Leerwert:                    1 ml synthetisches Kallidin  
                                      2 ml TRA-Puffer 7,8
  
- 2) Hauptwert:                    1 ml synthetisches Kallidin  
                                      1 ml Organhomogenat bzw. Hämolytat oder Plasma  
                                      1 ml TRA-Puffer 7,8
  
- 3) Hauptwert:                    1 ml synthetisches Kallidin  
                                      1 ml Organhomogenat bzw. Hämolytat oder Plasma  
                                      0,1 ml Inhibitor  
                                      0,9 ml TRA-Puffer 7,8

Vor und nach Gabe eines jeden Ansatzes muß ein Kallidineichwert stehen, um die gleichbleibende Empfindlichkeit des Uterus in diesem Zeitraum zu gewährleisten. Die Ausschläge der Ansätze wurden anhand solcher Kallidineichungen quantitativ ausgewertet.

### Beschreibung der verwendeten Inhibitoren

Als Enzymhemmer verwendeten wir folgende Stoffe:

- 1) Thioglykolsäure                wurde in einer molaren Konzentration von  
                                               $7,2 \times 10^{-2}$ ,  $1,4 \times 10^{-1}$  und  $3,2 \times 10^{-1}$  benutzt.
  
- 2) Cystein                                wurde  $7,25 \times 10^{-3}$  molar verwendet.
  
- 3) Parachlormercuribenzoessäure (pCMB)  
                                              wurde  $4,4 \times 10^{-4}$  molar verwendet.
  
- 4) Thioglyzerin                        wurde  $5,3 \times 10^{-4}$  molar für Plasmaenzyme verwendet.

5) Jodacetamid wurde  $8,76 \times 10^{-3}$  molar verwendet.

6) Athylmaleinimid wurde  $8,75 \times 10^{-3}$  molar verwendet.

Die Thioglykolsäure wurde mit 2 normaler Natronlauge auf ein pH von 7,5 eingestellt, alle übrigen Hemmstoffe wurden mit 1 molarem TRA-Puffer auf pH 7,8 eingestellt.

### Aktivitätsmessung

Eine bestimmte Gewichtsmenge frisches Organ und physiologische Kochsalzlösung wurden homogenisiert, abzentrifugiert und der abdekantierte Überstand weiter verwendet. Die Enzymaktivität wurde über die Abbaugeschwindigkeit bestimmt. Maßgebend dafür ist die Zeit für den 50 %igen Abbau der vorgegebenen Kallidinmenge. Um die Enzymaktivitäten der einzelnen Organe vergleichen zu können ist es zweckmäßig, festgelegte Maßeinheiten zu verwenden: Eine Internationale Einheit (I. E.) ist die Enzymmenge, die 1 Mikromol Kinin pro Minute abbaut.

Die Aktivitätsangaben erfolgen umgerechnet in

$\mu\text{g} (= \gamma)$  Kininabbau pro Minute pro g Organfrischgewicht

oder

$\mu\text{g} (= \gamma)$  Kininabbau pro Minute pro g Protein.

Der Proteingehalt der Organe wurde mit der Biuretmethode bestimmt und in mg Eiweiß pro Gramm angegeben.

# C. Ergebnisse

Tab. 1-8: Kininaseaktivität in der Leber und  
Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 1-8)

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 1     | 50 %iger Abbau<br>(min) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 3 1/2                   | 246                           |
| mit Hemmstoff                          |                         |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/2                  | 82                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 15 1/2                  | 56                            |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 41 1/2                  | 21                            |
| Cystein                                | 3 1/2                   | 246                           |
| pCMB                                   | $\infty$                | 0                             |
| Jodacetamid                            | 3                       | 287                           |
| Äthylmaleinimid                        | 47                      | 18                            |

Tab. 1

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 2     | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 2 3/3                     | 313                           |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/4                    | 84                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 15                        | 57                            |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 41                        | 21                            |
| Cystein                                | 2 1/2                     | 345                           |
| pCMB                                   | $\infty$                  | 0                             |
| Jodacetamid                            | 3 1/4                     | 265                           |
| Äthylmaleinimid                        | 40 3/4                    | 21                            |

Tab. 2

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 3     | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 5                         | 173                         |
| mit Hemmstoff                          |                           |                             |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10                        | 86                          |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 14 1/2                    | 59                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 42                        | 21                          |
| Cystein                                | 3 1/4                     | 265                         |
| pCMB                                   | $\infty$                  | 0                           |
| Jodacetamid                            | 3 1/2                     | 246                         |
| Äthylmaleinimid                        | 60                        | 14                          |

Tab. 3

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 4     | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 3 3/4                     | 229                         |
| mit Hemmstoff                          |                           |                             |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 9 3/4                     | 88                          |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 15 1/4                    | 57                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 40 3/4                    | 21                          |
| Cystein                                | 3 1/4                     | 265                         |
| pCMB                                   | $\infty$                  | 0                           |
| Jodacetamid                            | 2 1/2                     | 345                         |
| Äthylmaleinimid                        | 53                        | 16                          |

Tab. 4

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 5</u>                   | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/2          | 192                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 9 1/2          | 91                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 16             | 54                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 41 1/4         | 21                         |
| Cystein                                | 2 1/2          | 345                        |
| pCMB                                   | $\infty$       | 0                          |
| Jodacetamid                            | 2 1/2          | 345                        |
| Äthylmaleinimid                        | 49 3/4         | 17                         |

Tab. 5

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 6</u>                   | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4              | 216                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 3/4         | 80                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 15 3/4         | 55                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 41 1/2         | 21                         |
| Cystein                                | 2 3/4          | 313                        |
| pCMB                                   | $\infty$       | 0                          |
| Jodacetamid                            | 4              | 216                        |
| Äthylmaleinimid                        | 50             | 17                         |

Tab. 6

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 7</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|-------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                            | 3 1/2                     | 246                        |
| mit Hemmstoff                             |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m    | 10 3/4                    | 80                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m    | 16                        | 54                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m    | 41                        | 21                         |
| Cystein                                   | 3 1/2                     | 246                        |
| pCMB                                      | $\infty$                  | 0                          |
| Jodacetamid                               | 3 3/4                     | 229                        |
| Äthylmaleinimid                           | 49                        | 18                         |

Tab. 7

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 8</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|-------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                            | 5                         | 173                        |
| mit Hemmstoff                             |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m    | 10 1/2                    | 82                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m    | 16                        | 54                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m    | 41 1/2                    | 21                         |
| Cystein                                   | 2 2/3                     | 313                        |
| pCMB                                      | $\infty$                  | 0                          |
| Jodacetamid                               | 3 1/2                     | 246                        |
| Äthylmaleinimid                           | 54 1/2                    | 16                         |

Tab. 8

Tab. 9: Mittelwerte der Kininaseaktivität in der Leber mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 1-8)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4                         | 216                        |
| mit Hemmstoff                          |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/4                    | 84                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 15 1/2                    | 56                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 41 1/4                    | 21                         |
| Cystein                                | 3                         | 287                        |
| pCMB                                   | $\infty$                  | 0                          |
| Jodacetamid                            | 3 1/4                     | 265                        |
| Äthylmaleinimid                        | 51 3/4                    | 17                         |

Tab. 9

Bei der Leber ergab sich aus 8 Versuchen (Tab. 1-9) eine Kininaseaktivität im Mittel von  $216 \mu$  Kinin/g Protein x min.

In Hemmversuchen zeigte sich die stärkste Hemmung mit pCMB: es ließ sich mit einer  $4,4 \times 10^{-4}$  molaren Lösung eine vollständige Hemmung erzielen.

Die Thioglykolsäure hemmt die Kininaseaktivität schwächer als pCMB, bezogen auf molare Basis. Cystein und Jodacetamid beschleunigen den Kininabbau, beziehungsweise steigt die Kininaseaktivität um etwas weniger als ein Drittel.

Tab. 10-17: Kininaseaktivität in der Lunge und

Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 9-16)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 9</u>                   | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/2          | 736                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 16 1/2         | 201                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10             | 331                        |
| Cystein                                | 2 2/3          | 1 204                      |
| pCMB                                   | 4 3/4          | 697                        |
| Jodacetamid                            | 9 1/4          | 358                        |
| Äthylmaleinimid                        | 51 1/2         | 64                         |

Tab. 10

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 10</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 5 1/4          | 631                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 15 1/2         | 214                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10 3/4         | 308                        |
| Cystein                                | 2 3/4          | 1 204                      |
| pCMB                                   | 5 1/4          | 631                        |
| Jodacetamid                            | 8 1/2          | 390                        |
| Äthylmaleinimid                        | 48 1/2         | 68                         |

Tab. 11

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 11</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/4          | 779                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 17             | 195                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 11             | 301                        |
| Cystein                                | 2 1/2          | 1 325                      |
| pCMB                                   | 5              | 662                        |
| Jodacetamid                            | 7              | 473                        |
| Äthylmaleinimid                        | 49 1/2         | 67                         |

Tab. 12

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 12</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 5 1/4          | 631                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 17             | 195                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10 3/4         | 308                        |
| Cystein                                | 3              | 1 104                      |
| pCMB                                   | 4 3/4          | 697                        |
| Jodacetamid                            | 7 3/4          | 427                        |
| Äthylmaleinimid                        | 49 3/4         | 70                         |

Tab. 13

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 13</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 3 1/4          | 1 019                      |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 17 3/4         | 187                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10 1/2         | 315                        |
| Cystein                                | 2 3/4          | 1 204                      |
| pCMB                                   | 4              | 828                        |
| Jodacetamid                            | 8 3/4          | 378                        |
| Äthylmaleinimid                        | 45 3/4         | 72                         |

Tab. 14

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\delta$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 14</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 5 3/4          | 576                           |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 18 1/4         | 181                           |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10 3/4         | 308                           |
| Cystein                                | 3 1/2          | 946                           |
| pCMB                                   | 4 1/2          | 736                           |
| Jodacetamid                            | 8 3/4          | 378                           |
| Äthylmaleinimid                        | 46 1/2         | 71                            |

Tab. 15

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 15    | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 5                         | 662                           |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 16                        | 207                           |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 9 3/4                     | 340                           |
| Cystein                                | 2 1/4                     | 1 472                         |
| pCMB                                   | 5                         | 662                           |
| Jodacetamid                            | 8                         | 414                           |
| Äthylmaleinimid                        | 48 1/2                    | 68                            |

Tab. 16

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 16    | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4 3/4                     | 697                           |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 18                        | 184                           |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10 1/2                    | 315                           |
| Cystein                                | 2 1/2                     | 1 325                         |
| pCMB                                   | 5 1/4                     | 631                           |
| Jodacetamid                            | 8                         | 414                           |
| Äthylmaleinimid                        | 48                        | 69                            |

Tab. 17

Tab. 18: Mittelwerte der Kininaseaktivität in der Lunge mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 10-17)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4 3/4                     | 697                           |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 17                        | 195                           |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 10 1/2                    | 315                           |
| Cystein                                | 2 3/4                     | 1 204                         |
| pCMB                                   | 4 3/4                     | 697                           |
| Jodacetamid                            | 8 1/4                     | 442                           |
| Äthylmaleinimid                        | 48 1/2                    | 68                            |

Tab. 18

In der Lunge findet sich eine mittlere Kininaseaktivität von 697  $\mu$ g Kinin/g Protein x min (Tab. 10-18).

Cystein beschleunigt den Kininabbau durch Lungengewebeextrakt um etwa 45 Prozent. Dagegen hat pCMB im Gegensatz zur Leber keinen Einfluß auf die Kininaseaktivität der Lunge. Mit Äthylmaleinimid erreicht man eine Hemmung der Lungenkininase von etwa 90 %. Thioglykolsäure hemmt zwar auch, aber weniger wirksam als Äthylmaleinimid. Eine vollständige Hemmung war mit keinem der angeführten Hemmstoffe zu erreichen.

Tab. 19-26: Kininaseaktivität in der Niere und  
Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 17-24)

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 17</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 2 1/2                     | 1 449                      |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 5                         | 725                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 13                        | 279                        |
| Cystein                                    | 4 1/2                     | 805                        |
| pCMB                                       | 3 1/2                     | 1 035                      |
| Jodacetamid                                | 4                         | 906                        |
| Äthylmaleinimid                            | 24                        | 151                        |

Tab. 19

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 18</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 2 1/4                     | 1 610                      |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 5 1/2                     | 659                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 12                        | 302                        |
| Cystein                                    | 4 1/4                     | 853                        |
| pCMB                                       | 3 3/4                     | 966                        |
| Jodacetamid                                | 3 3/4                     | 966                        |
| Äthylmaleinimid                            | 22 1/2                    | 161                        |

Tab. 20

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 19</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 2              | 1 812                      |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5 3/4          | 630                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/2         | 290                        |
| Cystein                                | 4              | 906                        |
| pCMB                                   | 4              | 906                        |
| Jodacetamid                            | 3 3/4          | 966                        |
| Äthylmaleinimid                        | 21 3/4         | 167                        |

Tab. 21

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein |
|----------------------------------------|----------------|----------------------|
| <u>Versuch Nr. 20</u>                  | ( min )        |                      |
| ohne Hemmstoff                         | 1 3/4          | 2 070                |
| mit Hemmstoff                          |                |                      |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5 1/4          | 690                  |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 11 3/4         | 315                  |
| Cystein                                | 3 1/2          | 1 035                |
| pCMB                                   | 3 1/4          | 1 115                |
| Jodacetamid                            | 3 1/4          | 1 115                |
| Äthylmaleinimid                        | 25             | 145                  |

Tab. 22

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 21</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 2 1/2          | 1 449                      |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5              | 725                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/4         | 296                        |
| Cystein                                | 4 3/4          | 763                        |
| pCMB                                   | 3 3/4          | 966                        |
| Jodacetamid                            | 3 1/2          | 1 035                      |
| Äthylmaleinimid                        | 23 1/2         | 154                        |

Tab. 23

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 22</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 2 1/2          | 1 449                      |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5 1/2          | 659                        |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/2         | 290                        |
| Cystein                                | 5              | 725                        |
| pCMB                                   | 3 1/2          | 1 035                      |
| Jodacetamid                            | 3 1/2          | 1 035                      |
| Äthylmaleinimid                        | 23             | 158                        |

Tab. 24

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 23</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 2 1/4          | 1 610                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 4 3/4          | 763                           |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 11 1/2         | 315                           |
| Cystein                                | 4 1/4          | 853                           |
| pCMB                                   | 2 1/2          | 1 449                         |
| Jodacetamid                            | 4              | 906                           |
| Äthylmaleinimid                        | 22 3/4         | 159                           |

Tab. 25

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 24</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 2 1/4          | 1 610                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5 1/4          | 690                           |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/2         | 290                           |
| Cystein                                | 3 3/4          | 966                           |
| pCMB                                   | 3 3/4          | 966                           |
| Jodacetamid                            | 4 1/4          | 853                           |
| Äthylmaleinimid                        | 23 1/2         | 154                           |

Tab. 26

Tab. 27: Mittelwerte der Kininaseaktivität in der Niere mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 19-26)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein |
|----------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 2 1/4                     | 1 610                |
| mit Hemmstoff                          |                           |                      |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5 1/4                     | 690                  |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/4                    | 296                  |
| Cystein                                | 4 1/4                     | 853                  |
| pCMB                                   | 3 1/2                     | 1 035                |
| Jodacetamid                            | 3 3/4                     | 966                  |
| Äthylmaleinimid                        | 23 1/4                    | 156                  |

Tab. 27

In der Niere ist eine hohe Kininaseaktivität mit 1 610  $\mu$  Kinin/g Protein x min im Mittel vorhanden (Tab. 19-27).

Als wirksamster Hemmstoff erwies sich bei der Kininase der Niere vom Hund das Äthylmaleinimid. Es konnte eine fast vollständige Hemmung erreicht werden. Auch mit Thioglykolsäure läßt sich die kininabbauende Aktivität der Nierenkininase hemmen. Der Hemmstoff ist im molaren Vergleich jedoch schwächer als das Äthylmaleinimid. Eine geringe Hemmung konnte auch mit pCMB, Cystein und Jodacetamid gemessen werden.

Tab. 28-35: Kininaseaktivität im Darm und  
Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 25-32)

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 25</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\frac{1}{2}$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 4                         | 42                                 |
| mit Hemmstoff                              |                           |                                    |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 7 $\frac{3}{4}$           | 21                                 |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 5 $\frac{1}{2}$           | 30                                 |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 6 $\frac{1}{4}$           | 27                                 |
| Cystein                                    | 3 $\frac{1}{2}$           | 48                                 |
| pCMB                                       | 9 $\frac{3}{4}$           | 17                                 |

Tab. 28

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 26</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\frac{1}{2}$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 4 $\frac{1}{4}$           | 38                                 |
| mit Hemmstoff                              |                           |                                    |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 8                         | 21                                 |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 6 $\frac{1}{2}$           | 26                                 |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 6 $\frac{1}{2}$           | 26                                 |
| Cystein                                    | 3 $\frac{1}{4}$           | 51                                 |
| pCMB                                       | 9 $\frac{3}{4}$           | 17                                 |

Tab. 29

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 27</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/2          | 37                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 6 3/4          | 28                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 6              | 28                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 5 3/4          | 29                         |
| Cystein                                | 3 1/2          | 48                         |
| pCMB                                   | 11             | 15                         |

Tab. 30

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 28</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/4          | 38                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 6 1/2          | 28                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 6 1/4          | 27                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 5              | 33                         |
| Cystein                                | 3              | 56                         |
| pCMB                                   | 10 1/2         | 16                         |

Tab. 31

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 29</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/4          | 38                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7 1/4          | 23                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 6              | 28                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 6              | 28                         |
| Cystein                                | 3 3/4          | 44                         |
| pCMB                                   | 10 1/4         | 16                         |

Tab. 32

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 30</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 3 3/4          | 44                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 6 3/4          | 28                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 6 1/4          | 27                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 5 1/4          | 32                         |
| Cystein                                | 3              | 56                         |
| pCMB                                   | 10 3/4         | 16                         |

Tab. 33

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 31</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/2          | 37                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7 3/4          | 21                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 7              | 24                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 5 3/4          | 29                         |
| Cystein                                | 4 1/4          | 38                         |
| pCMB                                   | 10 1/2         | 16                         |

Tab. 34

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 32</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/2          | 37                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7 1/4          | 23                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 6 1/2          | 26                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 5 1/2          | 30                         |
| Cystein                                | 3 3/4          | 44                         |
| pCMB                                   | 11 1/2         | 14                         |

Tab. 35

Tab. 36: Mittelwerte der Kininaseaktivität im Darm mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 28-35)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/4                     | 38                            |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7 1/4                     | 23                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 6 1/4                     | 27                            |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 5 3/4                     | 29                            |
| Cystein                                | 3 1/2                     | 48                            |
| pCMB                                   | 10 1/2                    | 16                            |

Tab. 36

Im Darm ist die Kininasekonzentration mit einem Mittelwert (Tab. 28-36) von  $38 \gamma$  Kinin/g Protein x min relativ gering.

Alle verwendeten Stoffe außer Cystein hemmen die Kininaseaktivität nur mäßig. Die Wirkung von pCMB zeigte dabei noch die stärkste Wirkung mit etwa 50 %. Cystein dagegen beschleunigte den Kininabbau, hat also einen fördernden Einfluß auf die Kininaseaktivität des Darmes.

Tab. 37-44: Kininaseaktivität im Hirn und

Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 33-40)

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 33</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 5 3/4                     | 1 555                      |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 9 3/4                     | 917                        |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 35 1/2                    | 252                        |
| Cystein                                    | 5 1/2                     | 1 625                      |
| pCMB                                       | 6                         | 1 490                      |
| Jodacetamid                                | 5                         | 1 788                      |

Tab. 37

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 34</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 6 1/2                     | 1 375                      |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 9 1/2                     | 941                        |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 37                        | 242                        |
| Cystein                                    | 5 3/4                     | 1 555                      |
| pCMB                                       | 5 1/2                     | 1 625                      |
| Jodacetamid                                | 5 1/2                     | 1 625                      |

Tab. 38

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 35</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 6 1/4          | 1 430                      |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/4         | 872                        |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 36 1/4         | 247                        |
| Cystein                                | 6              | 1 490                      |
| pCMB                                   | 5 1/2          | 1 625                      |
| Jodacetamid                            | 5 3/4          | 1 555                      |

Tab. 39

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------|
| <u>Versuch Nr. 36</u>                  | ( min )        |                            |
| ohne Hemmstoff                         | 5 1/2          | 1 625                      |
| mit Hemmstoff                          |                |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/2         | 851                        |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 37             | 242                        |
| Cystein                                | 6              | 1 490                      |
| pCMB                                   | 6              | 1 490                      |
| Jodacetamid                            | 5 1/2          | 1 625                      |

Tab. 40

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu\text{Kinin/gProtein} \times \text{min}$ |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 37</u>                  | ( min )        |                                              |
| ohne Hemmstoff                         | 6              | 1 490                                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                                              |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/4         | 872                                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 37 3/4         | 237                                          |
| Cystein                                | 5              | 1 788                                        |
| pCMB                                   | 5 3/4          | 1 555                                        |
| Jodacetamid                            | 6 1/2          | 1 375                                        |

Tab. 41

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu\text{Kinin/gProtein} \times \text{min}$ |
|----------------------------------------|----------------|----------------------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 38</u>                  | ( min )        |                                              |
| ohne Hemmstoff                         | 5 1/2          | 1 625                                        |
| mit Hemmstoff                          |                |                                              |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 9 1/2          | 941                                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 36             | 248                                          |
| Cystein                                | 6 1/4          | 1 430                                        |
| pCMB                                   | 6 1/2          | 1 375                                        |
| Jodacetamid                            | 6              | 1 490                                        |

Tab. 42

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 39</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 6 3/4          | 1 324                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 9 3/4          | 917                           |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 37 1/2         | 238                           |
| Cystein                                | 5 3/4          | 1 555                         |
| pCMB                                   | 6 3/4          | 1 324                         |
| Jodacetamid                            | 6              | 1 490                         |

Tab. 43

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 40</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 5 3/4          | 1 555                         |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10 1/2         | 851                           |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 37 1/4         | 240                           |
| Cystein                                | 5 3/4          | 1 555                         |
| pCMB                                   | 6              | 1 490                         |
| Jodacetamid                            | 5 3/4          | 1 555                         |

Tab. 44

Tab. 45: Mittelwerte der Kininaseaktivität im Hirn mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 37-44)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/ gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 6                         | 1 490                       |
| mit Hemmstoff                          |                           |                             |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 10                        | 894                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 36 3/4                    | 243                         |
| Cystein                                | 5 3/4                     | 1 555                       |
| pCMB                                   | 6                         | 1 490                       |
| Jodacetamid                            | 5 3/4                     | 1 555                       |

Tab. 45

Das Gehirn enthält große Mengen von Kininase mit einem Mittelwert aus 8 Versuchen (Tab. 37-45) von 1 490  $\mu$ Kinin/ gProtein x min.

Keine Hemmung ließ sich bei der Kininaseaktivität des Gehirns vom Hund mit Cystein, pCMB und Jodacetamid erreichen. Dabei war auch keine Aktivitätssteigerung durch die verwendeten Substanzen zu erzielen.

Thioglykolsäure in der stärksten Konzentration hemmte die Kininaseaktivität zu fast 60 %. Die Hemmstoffe waren also bei der Kininase des Hirns entweder inaktiv oder nur relativ schwach wirksam.

Tab. 46-53: Kininaseaktivität in der Milz und

Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 41-48)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 41</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/4          | 24                            |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 8 1/2          | 12                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 13             | 8                             |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 17             | 6                             |
| Cystein                                | 2 1/2          | 41                            |
| pCMB                                   | 9 1/2          | 11                            |
| Jodacetamid                            | 26 1/2         | 4                             |
| Äthylmaleinimid                        | 18 1/2         | 6                             |

Tab. 46

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau | $\mu$ g Kinin/g Protein x min |
|----------------------------------------|----------------|-------------------------------|
| <u>Versuch Nr. 42</u>                  | ( min )        |                               |
| ohne Hemmstoff                         | 4 1/2          | 23                            |
| mit Hemmstoff                          |                |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 9              | 11                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/2         | 8                             |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 14 3/4         | 7                             |
| Cystein                                | 2 3/4          | 37                            |
| pCMB                                   | 10 1/4         | 10                            |
| Jodacetamid                            | 24             | 4                             |
| Äthylmaleinimid                        | 17 1/2         | 6                             |

Tab. 47

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 43</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 4                         | 26                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 8 1/2                     | 12                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 13 1/2                    | 8                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 15 1/2                    | 7                          |
| Cystein                                    | 2 1/2                     | 41                         |
| pCMB                                       | 11 1/2                    | 9                          |
| Jodacetamid                                | 23 3/4                    | 4                          |
| Äthylmaleinimid                            | 18                        | 6                          |

Tab. 48

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 44</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 4 1/2                     | 24                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 9 1/2                     | 11                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 11 3/4                    | 9                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 16                        | 6                          |
| Cystein                                    | 2 1/2                     | 41                         |
| pCMB                                       | 11 1/4                    | 9                          |
| Jodacetamid                                | 23                        | 4                          |
| Äthylmaleinimid                            | 17                        | 6                          |

Tab. 49

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 45</u> | 50 %iger Abbau<br>( min) | γ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|--------------------------|------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 3 3/4                    | 27                     |
| mit Hemmstoff                              |                          |                        |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 8 1/4                    | 14                     |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 12                       | 9                      |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 16 1/4                   | 6                      |
| Cystein                                    | 2 3/4                    | 37                     |
| pCMB                                       | 10 3/4                   | 9                      |
| Jodacetamid                                | 25 1/4                   | 4                      |
| Äthylmaleinimid                            | 15 1/4                   | 7                      |

Tab. 50

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 46</u> | 50 %iger Abbau<br>( min) | γ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|--------------------------|------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 3 1/2                    | 29                     |
| mit Hemmstoff                              |                          |                        |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 9 1/2                    | 11                     |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 13 1/2                   | 8                      |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 15                       | 6                      |
| Cystein                                    | 2 3/4                    | 37                     |
| pCMB                                       | 10                       | 10                     |
| Jodacetamid                                | 26                       | 4                      |
| Äthylmaleinimid                            | 16                       | 6                      |

Tab. 51

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 47    | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4                         | 26                            |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7                         | 15                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 13 1/4                    | 8                             |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 13 1/2                    | 8                             |
| Cystein                                | 2 1/4                     | 45                            |
| pCMB                                   | 12 1/2                    | 8                             |
| Jodacetamid                            | 25                        | 4                             |
| Äthylmaleinimid                        | 15                        | 7                             |

Tab. 52

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 48    | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 3 3/4                     | 27                            |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 9 3/4                     | 10                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 14                        | 7                             |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 16                        | 6                             |
| Cystein                                | 2                         | 46                            |
| pCMB                                   | 12 1/4                    | 8                             |
| Jodacetamid                            | 24 1/2                    | 4                             |
| Äthylmaleinimid                        | 14 3/4                    | 7                             |

Tab. 53

Tab. 54: Mittelwerte der Kininaseaktivität in der Milz mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 46-53)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4                         | 26                         |
| mit Hemmstoff                          |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 8 3/4                     | 12                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 12 1/4                    | 8                          |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 15 1/2                    | 7                          |
| Cystein                                | 2 1/2                     | 41                         |
| pCMB                                   | 11                        | 9                          |
| Jodacetamid                            | 24 3/4                    | 4                          |
| Äthylmaleinimid                        | 16 1/2                    | 6                          |

Tab. 54

In der Milz des Hundes finden sich in mittlerer Konzentration von 26  $\mu$ Kinin/g Protein x min nur geringe Kininaseaktivitäten (Tab. 46-54).

Keiner der Hemmstoffe führte zwar zu einer vollständigen Hemmung, als sehr wirksam erwies sich mit 81 %iger Hemmung das Jodacetamid.

Die Hemmwirkung von Thioglykolsäure ist mit 70 % etwas schwächer, die molare Konzentration liegt dabei wesentlich höher als die von Jodacetamid.

Cystein hebt die Kininaseaktivität um fast 50 % auf.

Tab. 55-62: Kininaseaktivität in Erythrozyten und  
Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 49-56)

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 49</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 5 1/2                     | 36                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 5 1/4                     | 37                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 7                         | 28                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 7 1/2                     | 26                         |
| Cystein                                    | 6                         | 33                         |
| pCMB                                       | 17                        | 12                         |
| Jodacetamid                                | 6 1/4                     | 31                         |
| Äthylmaleinimid                            | 24                        | 8                          |

Tab. 55

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 50</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 5 1/4                     | 37                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 6 1/4                     | 31                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 7 1/4                     | 28                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 8                         | 24                         |
| Cystein                                    | 6 1/2                     | 30                         |
| pCMB                                       | 18                        | 11                         |
| Jodacetamid                                | 6                         | 33                         |
| Äthylmaleinimid                            | 28 1/2                    | 7                          |

Tab. 56

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 51    | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4 3/4                     | 41                            |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 5 3/4                     | 34                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 8                         | 24                            |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 7 1/4                     | 28                            |
| Cystein                                | 8                         | 24                            |
| pCMB                                   | 18 1/2                    | 11                            |
| Jodacetamid                            | 5                         | 39                            |
| Äthylmaleinimid                        | 27                        | 7                             |

Tab. 57

| Kininaseaktivität<br>Versuch Nr. 52    | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 4                         | 49                            |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7 3/4                     | 25                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 7 3/4                     | 25                            |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 8                         | 24                            |
| Cystein                                | 7 1/4                     | 28                            |
| pCMB                                   | 18 1/4                    | 11                            |
| Jodacetamid                            | 5 1/2                     | 36                            |
| Äthylmaleinimid                        | 24 1/4                    | 8                             |

Tab. 58

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 53</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 5 1/4                     | 37                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 8                         | 24                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 7 1/2                     | 26                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 9                         | 22                         |
| Cystein                                    | 7 3/4                     | 25                         |
| pCMB                                       | 16 1/2                    | 12                         |
| Jodacetamid                                | 5 1/4                     | 37                         |
| Äthylmaleinimid                            | 25                        | 8                          |

Tab. 59

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 54</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 5 3/4                     | 34                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 7 1/4                     | 28                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 6 3/4                     | 29                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 8 1/2                     | 23                         |
| Cystein                                    | 6                         | 33                         |
| pCMB                                       | 15 3/4                    | 12                         |
| Jodacetamid                                | 5 3/4                     | 34                         |
| Äthylmaleinimid                            | 29                        | 7                          |

Tab. 60

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 55</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 4 1/2                     | 46                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 7 3/4                     | 25                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 7 1/2                     | 26                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 8 1/4                     | 24                         |
| Cystein                                    | 7 3/4                     | 25                         |
| pCMB                                       | 18 1/2                    | 11                         |
| Jodacetamid                                | 4                         | 49                         |
| Äthylmaleinimid                            | 26                        | 8                          |

Tab. 61

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 56</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 5 1/4                     | 37                         |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 8                         | 24                         |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m     | 8 1/4                     | 24                         |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m     | 7 1/2                     | 26                         |
| Cystein                                    | 7 1/4                     | 28                         |
| pCMB                                       | 17 3/4                    | 11                         |
| Jodacetamid                                | 4 1/4                     | 46                         |
| Äthylmaleinimid                            | 24 1/4                    | 8                          |

Tab. 62

Tab. 63: Mittelwerte der Kininaseaktivität in Erythrozyten mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 55-62)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 5                         | 39                            |
| mit Hemmstoff                          |                           |                               |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 7                         | 28                            |
| Thioglykolsäure $1,4 \times 10^{-1}$ m | 7 1/2                     | 26                            |
| Thioglykolsäure $3,2 \times 10^{-1}$ m | 8                         | 24                            |
| Cystein                                | 7                         | 29                            |
| pCMB                                   | 17 1/2                    | 11                            |
| Jodacetamid                            | 5 1/4                     | 36                            |
| Äthylmaleinimid                        | 26                        | 8                             |

Tab. 63

Jodacetamid ist bei der schwachen Kininaseaktivität der Erythrozyten (Tab. 55-63) ohne hemmenden oder aktivierenden Einfluß. Die Thioglykolsäure und das Cystein hemmen die Kininaseaktivität nur schwach. pCMB und Äthylmaleinimid hemmten von allen Stoffen noch am stärksten mit einer Aktivitätsminderung der Kininase auf etwa 25 %.

Prüfung von nichthaemolysierten Erythrozyten zeigte keine Kininaseaktivität. Zur Prüfung der Erythrozytenmembranen wurde das Haemolysat in der Ultrazentrifuge bei 40 000 U/min 10 min. lang zentrifugiert. Auch die Erythrozytenmembranen ließen keine Kininaseaktivität erkennen.

Tab. 64-71: Kininaseaktivität im Plasma und  
Kininaseaktivität nach Hemmung mit verschiedenen Hemmstoffen  
in verschiedener Konzentration (Versuch 57-64)

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 57</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\gamma$ -Kinin/ gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 1 1/2                     | 6                               |
| mit Hemmstoff                              |                           |                                 |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 43 1/4                    | 0,2                             |
| Cystein                                    | 8                         | 1                               |
| pCMB                                       | 1 1/2                     | 6                               |
| Jodacetamid                                | 3 1/2                     | 2                               |
| Äthylmaleinimid                            | 1/4                       | 34                              |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                               |

Tab. 64

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 58</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\delta$ -Kinin/ gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 1 3/4                     | 5                               |
| mit Hemmstoff                              |                           |                                 |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 42 3/4                    | 0,2                             |
| Cystein                                    | 8 1/2                     | 1                               |
| pCMB                                       | 1 1/2                     | 6                               |
| Jodacetamid                                | 3 1/4                     | 3                               |
| Äthylmaleinimid                            | 1/4                       | 34                              |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                               |

Tab. 65

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 59</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 1 1/4                     | 7                          |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 41 1/4                    | 0,2                        |
| Cystein                                    | 7                         | 1                          |
| pCMB                                       | 1 3/4                     | 5                          |
| Jodacetamid                                | 4                         | 2                          |
| Äthylmaleinimid                            | 1/4                       | 34                         |
| Thioglyzerin                               | $\infty$                  | 0                          |

Tab. 66

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 60</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 2                         | 5                          |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 42 1/2                    | 0,2                        |
| Cystein                                    | 7 1/2                     | 1                          |
| pCMB                                       | 2                         | 5                          |
| Jodacetamid                                | 3 3/4                     | 2                          |
| Äthylmaleinimid                            | 1/2                       | 17                         |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                          |

Tab. 67

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 61</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 2                         | 5                          |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 40 3/4                    | 0,2                        |
| Cystein                                    | 7 3/4                     | 1                          |
| pCMB                                       | 2 1/4                     | 4                          |
| Jodacetamid                                | 3 1/2                     | 3                          |
| Äthylmaleinimid                            | 1/2                       | 17                         |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                          |

Tab. 68

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 62</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 1 3/4                     | 5                          |
| mit Hemmstoff                              |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 41 3/4                    | 0,2                        |
| Cystein                                    | 7 1/2                     | 1                          |
| pCMB                                       | 1 3/4                     | 5                          |
| Jodacetamid                                | 3                         | 3                          |
| Äthylmaleinimid                            | 1/4                       | 34                         |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                          |

Tab. 69

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 63</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ g Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 1 3/4                     | 5                            |
| mit Hemmstoff                              |                           |                              |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 41                        | 0,2                          |
| Cystein                                    | 7                         | 1                            |
| pCMB                                       | 1 1/2                     | 6                            |
| Jodacetamid                                | 2 1/2                     | 3                            |
| Äthylmaleinimid                            | 1/4                       | 34                           |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                            |

Tab. 70

| Kininaseaktivität<br><u>Versuch Nr. 64</u> | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ g Kinin/gProtein x min |
|--------------------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| ohne Hemmstoff                             | 2                         | 5                            |
| mit Hemmstoff                              |                           |                              |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m     | 42 3/4                    | 0,2                          |
| Cystein                                    | 6 3/4                     | 1                            |
| pCMB                                       | 1 3/4                     | 5                            |
| Jodacetamid                                | 2 3/4                     | 3                            |
| Äthylmaleinimid                            | 1/4                       | 34                           |
| Thioglycerin                               | $\infty$                  | 0                            |

Tab. 71

Tab. 72: Mittelwerte der Kininaseaktivität im Plasma mit verschiedenen Hemmstoffen in verschiedener Konzentration (Tab. 64-71)

| Kininaseaktivität                      | 50 %iger Abbau<br>( min ) | $\mu$ Kinin/gProtein x min |
|----------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ohne Hemmstoff                         | 1 3/4                     | 5                          |
| mit Hemmstoff                          |                           |                            |
| Thioglykolsäure $7,2 \times 10^{-2}$ m | 42                        | 0,2                        |
| Cystein                                | 7 1/2                     | 1                          |
| pCMB                                   | 1 3/4                     | 5                          |
| Jodacetamid                            | 3 1/4                     | 3                          |
| Äthylmaleinimid                        | 1/4                       | 34                         |
| Thioglycerin                           | $\infty$                  | 0                          |

Tab. 72

Im Hundeplasma sind nur äußerst geringe Kininasemengen mit  $5 \mu$  Kinin/g Protein min (Tab. 64-72) enthalten. Eine vollständige Hemmung konnte mit Thioglycerin erreicht werden, ebenso führte Thioglykolsäure zu einer fast völligen Hemmung. Jodacetamid und Cystein hemmten die Kininase schwächer. Äthylmaleinimid beschleunigte den Kininabbau. pCMB war ohne Einfluß auf die Kininase im Plasma.

| Hemmung durch             |                      |      |                  | Aktivierung durch         |                                      |                           |                                            |
|---------------------------|----------------------|------|------------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------|
| Thio-<br>glykol-<br>säure | Cystein              | pCMB | Jodacet-<br>amid | Äthyl-<br>malein-<br>imid | Thio-<br>glycerin<br>(für<br>Plasma) | Thio-<br>glykol-<br>säure | Cystein<br>amid<br>imid<br>(für<br>Plasma) |
| Leber                     | +++                  | ++++ | +                | +++                       |                                      |                           | +                                          |
| Lunge                     | ++                   | Ø    | +                | +++                       |                                      |                           | ++                                         |
| Niere                     | ++                   | +    | +                | +++                       |                                      |                           |                                            |
| Darm                      | +                    | ++   |                  |                           |                                      |                           | +                                          |
| Hirn                      | ++                   | Ø    | Ø                |                           |                                      |                           |                                            |
| Milz                      | ++                   | +    | ++               | ++                        |                                      |                           | ++                                         |
| Erythrozyten              | +                    | ++   | Ø                | ++                        |                                      |                           |                                            |
| Plasma                    | ++++                 | ++   | Ø                | +                         | ++++                                 |                           | ++                                         |
| +++                       | vollständige Hemmung |      |                  |                           |                                      | +++                       | starke Aktivierung                         |
| +++                       | starke Hemmung       |      |                  |                           |                                      | ++                        | mäßige Aktivierung                         |
| ++                        | mäßige Hemmung       |      |                  |                           |                                      | +                         | schwache Aktivierung                       |
| +                         | schwache Hemmung     |      |                  |                           |                                      |                           |                                            |
| Ø                         | keine Hemmung        |      |                  |                           |                                      |                           |                                            |

Tab. 73

Kininase-Aktivitäten

| Organ        | Aktivität in % |
|--------------|----------------|
| Leber        | 12,42          |
| Lunge        | 43,29          |
| Niere        | 100            |
| Darm         | 2,36           |
| Hirn         | 92,54          |
| Milz         | 1,61           |
| Erythrozyten | 2,42           |
| Plasma       | 0,31           |

Tab. 74

Die Kininaseaktivität der Niere von 1 610  $\mu$ Kinin/g Protein x min wurde, da es die höchste Organaktivität ist, gleich 100 % gesetzt.

#### D. Diskussion

Wenn man die Kininaseaktivitäten der Organe untereinander vergleicht, so findet sich die höchste Kininasemenge in der Niere mit  $1\,610\ \mu\text{g Kinin/g Protein} \times \text{min.}$ , d. h. ein Gramm Gewebe dieses Organs vermag in einer Minute ca. 1,6 mg Kinin abzubauen. Wenn man diese Menge auf eine Sekunde umrechnet, so sind das ca.  $26\ \mu\text{g Kinin pro Gramm Gewebe}$ .

Um einen Rattenuterus zur Kontraktion zu bringen genügen Bruchteile eines  $\mu\text{g}$  Kinin. Gemessen an dieser hohen spezifischen Wirksamkeit der Kinine in geringsten Mengen ist demgegenüber die Menge des Kinin-abbauenden Enzyms in der Niere enorm hoch. Aufgrund dieser hohen Kininaseaktivität ist man geneigt anzunehmen, daß der Niere möglicherweise eine besondere Aufgabe im Kininogen - Kinin - Kinase - System zukommt. Bei der Betrachtung der übrigen Organe fällt auf, daß nur noch das Gehirn und die Lunge mit der Niere vergleichsweise ähnlich hohe Kininaseaktivitäten besitzen. In allen übrigen Geweben sind nur relativ geringe Kininasemengen vorhanden. Die Überlegungen der physiologischen Funktion der Kininaseaktivitäten können jedoch nur rein spekulativ sein, da man die Spezifität der Kininasen nach Reindarstellung und nach Bestimmung der Substratspezifität exakter erfassen kann.

Stellt man die Niere und das Gehirn mit den höchsten Kininaseaktivitäten gegenüber und fragt sich nach einem Zusammenhang beider Organe, so wird man am ehesten an die Durchblutung denken. Beide Organe sind besonders empfindlich gegenüber einer Mangelversorgung. Vielleicht haben die Kinine in diesen Organen an den Gefäßen spezifische Angriffspunkte um sie entsprechend weit zu halten. Daß die Kinin-abbauenden Enzyme gerade in diesen Organen besonders reichlich vorhanden sind, könnte mit einem hohen Kininumsatz in Verbindung gebracht werden. Vielleicht werden in diesen Organen größere Kininmengen freigesetzt, die nach Entfaltung ihrer Aktivität am Erfolgsorgan auch rasch wieder eliminiert werden müssen, damit sie am übrigen Organismus keine unerwünschten Nebenwirkungen, wie zum Beispiel eine Absenkung des Blutdruckes hervorrufen können.

Die Kininasen der verschiedenen Organe wurden mit Hilfe einer Reihe von Hemmstoffen voneinander differenziert. Die Kininasen des Gehirns und der Niere zeigen hier keine Übereinstimmung. Sie scheinen zumindest eine andere Zusammensetzung zu haben, da eine Hemmung der Gehirnkkininase durch Cystein, pCMB und Jodacetamid im Gegensatz zur Kininaseaktivität der Niere nicht möglich ist.

Es besteht hier also keine Übereinstimmung. Eine gewisse Ähnlichkeit ergibt sich beim Vergleich der Kininase von Leber und Niere. Hier sind keine grundsätzlichen sondern nur graduelle Unterschiede vorhanden im Verhalten gegenüber den Hemmstoffen. Bei den vorhandenen graduellen Unterschieden ist nicht auszuschließen, daß es in den einzelnen Organen auch mehrere voneinander verschiedene Kininasen gibt. Es können also verschiedene Kininasen in einem Organ vorhanden sein. Übereinstimmend bei der Leber- und Lungen-Kininase ist der aktivierende Einfluß von Cystein, der auch bei der Kininase der Milz vorhanden ist. Die Kininase der Milz zeigt auch sonst eine Übereinstimmung mit der der Leber und der Niere. Die Kininase des Gehirns ist mit keiner Kininase der übrigen Organe identisch, da weder pCMB noch Jodacetamid und Cystein einen hemmenden oder aktivierenden Einfluß haben.

Die Kininase des Plasmas hat eine gewisse Sonderstellung unter den Organkininasen, da sie bereits durch geringste Thioglykolsäuremengen gehemmt werden kann, eine Eigenschaft, die nur annähernd die Kininase der Leber aufweist. Hier ist aber mit Hilfe des Cystein und des pCMB eine eindeutige Differenzierung möglich. Im allgemeinen sollte man annehmen, daß so niedrige Kininaseaktivitäten wie sie im Plasma enthalten sind gegenüber den hohen Kininasegehalten von Niere und Gehirn von geringer physiologischer Bedeutung sind. Man weiß, daß bei der Gerinnung des Blutes oder der Glasaktivierung aus Plasma ohne Zusatz von freisetzenden Enzymen Kinin in Mengen liberiert wurden, die zum Beispiel eine uteruskontrahierende Wirkung haben (34, 100-103). Dieses Kinin verschwindet bei einfachem Stehenlassen des Blutes, was auf die Kininaseaktivität des Blutes zurückzuführen ist. Das freigesetzte Kinin wird damit vorübergehend wirksam bevor es abgebaut wird. Dieser Vorgang erscheint von der Physiologie her sehr sinnvoll und könnte zum Beispiel mit dem Acetylcholin - Acetylcholinesterase - System verglichen werden. Es wäre denkbar, daß eine zu hohe Kininaseaktivität des Blutes einen zu raschen Abbau des Kinins zur Folge haben könnte und das Kinin dann seine eventuelle physiologische Aufgabe nicht erfüllen könnte. Im Blut entstehen bei einer einmaligen Glasaktivierung ungefähr  $0,2 \mu\text{g}$  Kinin, bezogen auf einen Milliliter Plasma. Ein Milliliter Plasma vermag in einer Minute  $5 \mu\text{g}$  Kinin abzubauen, das entspricht nicht ganz  $0,1 \mu\text{g}$  Kinin pro Sekunde. Wenn man diese beiden Werte von Kinin und Kininase des Blutes vergleicht, so besteht hier eine auffallende Übereinstimmung.

Die Kontraktion einer glatten Muskulatur nach Kinineinwirkung erfolgt sehr rasch, vermutlich in Sekundenbruchteilen, sodaß die Kininasemenge wie auf die freisetzbare Kininmenge abgestimmt erscheint.

### E. Zusammenfassung

Leber, Lunge, Niere, Darm, Gehirn, Milz, Erythrozyten und Plasma vom Hund wurden auf ihren Gehalt an Kininase untersucht.

Niere und Gehirn zeigten die höchste Kininaseaktivität, in beiden Organen wurden, bezogen auf ihren Proteingehalt, etwa gleiche Mengen Kininase gefunden. Lunge enthält um die Hälfte weniger Kininaseaktivität als Niere und Gehirn. Nur geringe Kininasewirksamkeit wurden in Darm, Milz, Erythrozyten und Plasma gemessen, wobei das Plasma die niedrigste Konzentration zeigte.

Eine Differenzierung der Organkininasen voneinander wurde mit Hilfe der Hemmstoffe Thioglykolsäure, Cystein, Parachlormercuribenzoessäure, Jodacetamid, Äthylmaleinimid und Thioglycerin versucht.

Die Kininasen von Niere und Gehirn zeigten keine Übereinstimmung ihrer Hemmbarkeit durch gleiche Inhibitoren.

Die Gehirnkininase ist mit keiner anderen Kininase der übrigen untersuchten Organe identisch.

Auffallenderweise bewirkte Cystein bei Plasma eine deutliche Hemmung des Kallidinabbaues während es bei den meisten Organextrakten eine Aktivierung auslöste.

Literaturverzeichnis

- 1 Frey, E.K. und H. Kraut Z. Physiol. Chem. 157, 32 (1926)
- 2 Werle, E. und M. Grunz Biochem. Z. 301, 429 (1939)
- 3 Werle, E. Angew. Chem. 60, 53 (1948)
- 4 Rocha e Silva, M. W. T. Beraldo a. G. Rosenfeld Amer. J. Physiol.: 156, 261 (1949)
- 5 Kraut, H., E.K. Frey und E. Werle Z. physiol. Chem. 189, 97 (1930)
- 6 Werle, E. Biochem. Z. 290, 129 (1937)
- 7 Werle, E., H. Fritz, H. Haendle und I. Trautschold Vortrag: Conference on Chemistry Pharmacology and Clinical Applications of Proteinase Inhibitors, Academy of Sciences, New York 1966
- 8 Werle, E. und P. von Roden Biochem. Z. 286, 213 (1936)
- 9 Bhoola, K. D. und C. W. Ogle J. Physiol. 184, 663 (1966)
- 10 Trautschold, I. Habilitationsschrift der Med. Fakultät München 1965
- 11 Werle, E. und R. Vogel Arch. int. Pharmacodyn. 131, 257 (1961)
- 12 Werle, E., R. Vogel und G. Kaliampetos II. Weltkongress für Gastroenterologie, München 1962; Karger, Basel; II, S. 778

- 13 Kraut, H., E.K. Frey, Z.physiol.Chem. 230, 259  
E. Werle und (1934)  
F. Schultz
- 14 Rüdél, G. Dissertation, Med. Fakultät München 1961
- 15 Werle, E., M.M. Forell Arch. exper. Path. Pharmakol. 225, 369  
und L. Maier (1955)
- 16 Schlachter, M. in: Polypeptides which Affect Smooth Muscles and  
Blood Vessels, Pergamon Press, London  
1960, S. 232
- 17 Margolis, J. J.Physiol. 144, 1 (1958)
- 18 Margolis, J. und Nature 194, 749  
E.A. Bishop (1962)
- 19 Armstrong, D., J.Physiol. 135, 350  
J.B. Jepson, C.A. Keele (1957)  
und J.W. Stewart
- 20 Webster, M.E. Arthritis Rheumatism 9, 473 (1966)
- 21 Naughten, M.A., Biochem.J. 77, 149  
T. Sanger, (1960)  
S.B. Hartley a. D. C. Shaw
- 22 Hamberg, U. and Arch. int. Pharmacodyn. 60, 222  
M. Rocha e Silva (1957)
- 23 Hamberg, U. and Experientia 13, 489  
M. Rocha e Silva (1957)
- 24 Hamberg, U., F.Merlin Biochim.biophys.Acta 52, 533  
Bumpus and (1961)  
J.H. Page

- |    |                                                  |                                                  |
|----|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 25 | Werle, E.,<br>I. Trautschold und<br>G. Leysath   | Hoppe Seylers Z.physiol.Chem. 326, 174<br>(1961) |
| 26 | Werle, E., R.Kehl und<br>K. Köbcke               | Biochem. Z. 320, 372<br>(1950)                   |
| 27 | Habermann, E. und<br>G. Rosenbusch               | Arch. exper. Path. Pharmacol. 243, 357<br>(1962) |
| 28 | Habermann, E.,<br>W. Klett und<br>G. Rosenbusch  | Z.physiol.Chem. 332, 121<br>(1963)               |
| 29 | Habermann, E. und<br>G. Blennemann               | Arch. exper. Path. Pharmacol. 247, 324<br>(1964) |
| 30 | Jacobsen, S.                                     | Brit. J. Pharmacol. 28, 64 (1966)                |
| 31 | Jacobsen, S.                                     | Brit. J. Pharmacol. 26, 403 (1966)               |
| 32 | Jacobsen, S.                                     | Brit. J. Pharmacol. 27, 213 (1966)               |
| 33 | Jacobsen, S.                                     | Nature 210, 98 (1966)                            |
| 34 | Jacobsen, S. und<br>M. Kriz                      | Brit. J. Pharmacol. 29, 25<br>(1967)             |
| 35 | Werle, E. und<br>F. Preisser                     | Naturwissenschaften 43, 376<br>(1956)            |
| 36 | Ersparmer, V.,<br>G. Bertacini und<br>N. Orakawa | Jap. J. Pharmacol. 14, 468<br>(1964)             |
| 37 | Habermann, E., G.<br>Blennemann und<br>B. Müller | Arch. exper. Path. Pharmacol. 253, 444<br>(1966) |

- 38 Werle, E.,  
K. Hochstrasser und  
I. Trautschold in: Hypotensive Polypeptides,  
E. G. Erdös, N. Back und Springer Verlag 1966, S. 105  
F. Sicuteri:
- 39 Hochstrasser, K. und Z. physiol. Chem. 348, 177  
E. Werle (1967)
- 40 Habermann, E. und Naturwissenschaften 51, 61  
S. Schuck (1964)
- 41 Pierce, J. V. und  
M. E. Webster in: Hypotensive Peptides,  
E. G. Erdös, N. Back Springer Verlag, New York 1966, S. 130  
und F. Sicuteri:
- 42 Elliot, D. F., Biochem. Biophys. Res. Commun. 3, 87  
G. P. Lewis and (1960)  
E. W. Horton
- 43 Elliot, D. F., Biochem. J. 70, 15  
G. P. Lewis and (1960)  
E. W. Horton
- 44 Pierce, J. V. and Biochem. Biophys. Res. Commun. 5, 335  
M. E. Webster (1961)
- 45 Frey, E. K., H. Kraut Kallikrein-Kinin-System und seine Inhibitoren  
und E. Werle Ferdinand Enke-Verlag Stuttgart 1968
- 46 Werle, E. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.,  
Bd. 245, Heft 1 (1963) S. 254
- 47 Lewis, G. P. Ann. N. Y. Acad. Sc. 104, 236 (1962)

- 48 Trautschold, I.,                      Arzneimittelforsch. 16, 1507  
E. Werle und                           (1966)  
G. Zickgraf-Rüdel
- 49 Beraldo, W. T.                      Ann.J. Physiol. 163, 283 (1950)
- 50 Webster, M. E. und                  Ann.J. Physiol. 197, 406  
W. R. Clark                           (1959)
- 51 Diniz, C. R.,                      Nature 192, 1194  
J. F. Carvalho, J. Ryan              (1961)  
und M. Rocha e Silva
- 52 Diniz, C. R. und                   Ann. N. Y. Acad. S. C. 104, 77  
J. F. Carvalho                       (1963)
- 53 Corrado, A. P.,                    Biochem. Pharmacol. 15, 959  
M. L. Reis,                           (1966)  
J. F. Carvalho and  
C. R. Diniz
- 54 Werle, E.,                          Klinische Wschr. 44, 656 (1966)  
I. Trautschold und  
H. Schievelbein
- 55 Oates, J. A. und                    in:                      Hypotensive Peptides, Springer  
K. L. Melmon                        New York 1966, S. 565  
E. G. Erdős, N. Back  
und F. Sicuteri (Eds.)
- 56 Schlachter, M.                    in:                      Polypeptides which Affect Smooth Muscles and  
                                          Blood Vessels, Pergamon Press, Oxford-Lon-  
                                          don 1960, S. 232
- 57 Werle, E., W. Götze                Biochem. Z. 289, 217  
und A. Keppler                       (1937)

- 58 Werle, E. und M. Grunz Biochem. Z. 301, 429 (1939)
- 59 Rocha e Silva, M. Arch.int. Pharmacodyn. 88, 271 (1951)
- 60 Erdös, E. G. und M.P. Westerman Fed. Proc. 22, 425 (1963)
- 61 Erdös, E. G., E.M. Sloane und I.M. Wohler Biochem. Pharmacol. 13, 893 (1964)
- 62 Erdös, E. G. und H. Y. T. Yang in: Hypotensive Peptides, Springer Verlag New York 1966, S 235  
E. G. Erdös, N. Back und F. Sicuteri
- 63 Werle, E., R. Kehl und K. Köbcke Biochem. Z. 321, 213 (1950)
- 64 Erdös, E. G. Biochem. Pharmacol. 8, 112 (1961)
- 65 Erdös, E. G. Proc. First Int. Pharmacol. Meeting VI, 159 (1962)
- 66 Hopsu, V.K. und K.K. Mäkinen Nature 212, 1271 (1966)
- 67 Hopsu, V.K. und K.K. Mäkinen Arch. Biochem. Biophys. 114, 557, 567 (1966)
- 68 Erdös, E. G. und H. Y. T. Yang in: Bradykinin, Kallidin und Kallikrein, E. G. Erdös Springer Verlag Berlin-Heidelberg New York (1973)

- 69 Werle, E.,  
W. Götze und  
A. Keppler  
Über die Wirkung des Kallikreins auf den iso-  
lierten Darm und über eine neue darmkontrahie-  
rende Substanz. Biochem. Z. 289, 217 (1937)
- 70 Werle, E. und  
R. Hambrechen  
Zur Kenntnis der blutdrucksenkenden und spas-  
molytischen Wirkung des Kallikreins und der  
Substanz DK. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.  
Path. Pharmacol. 201/311 (1943)
- 71 Klett, W.  
Über Reinigung und Reaktionsbedingungen von  
Kininase und Kininogen.  
Inaug.-Diss. Würzburg 1962
- 72 Erdös, E. G.  
Enzymes that inactivate active polypeptides.  
Biochem. Pharmacol. 8. 112 (1961)
- 73 Erdös, E. G.  
Enzymes that inactivate active polypeptides. In:  
Metabolic factors controlling duration of drug  
actions, p. 159, ed. by Brodil and E. G. Erdös,  
Oxford: Pergamon Press 1962
- 74 Werle, E. und  
P. Eckey  
Biochem. Z. 269, 435  
(1934)
- 75 Erdös, E. G.,  
J. M. Wohler,  
M. I. Levine und  
M. P. Westerman  
Clin. Acta 11, 39  
(1965)
- 76 Effkemann, G. und  
E. Werle  
Arch. Gynaekol. 171, 1  
(1941)
- 77 Erdös, E. G. und  
M. P. Westerman  
Fed. Proc. 22, 425  
(1963)
- 78 Yang, H. Y. T. und  
E. G. Erdös  
Nature 215, 169  
(1967)

- 79 Schwab, J. Kininases in leucocytes and other tissues.  
Nature (Lond.) 195, 345 (1962)
- 80 Zachariae, H., Life Sci. 5, 2347  
J. Malmquist und (1966)  
J. A. Oates
- 81 Melmon, K. L. und Nature (Lond.) 217, 90  
M. J. Cline (1967 b)
- 82 Erdös, E. G. Advanc. Pharmacol. 4, 1  
(1966 a)
- 83 Erdös, E. G. Gastroenterology 51, 893 (1966 b)
- 84 Werle, E. und Biochem. Z. 320, 136  
U. Berek (1950)
- 85 Erdös, E. G., Life Sci. 1, 765  
M. A. Mennamin und (1962)  
J. R. Wohler
- 86 Erdös, E. G. und Life Sci. 6, 569  
H. Y. T. Yang (1967 a)
- 87 Frey, E. K., Kallikrein (Padutin)  
H. Kraut und Stuttgart: Ferdinand Enke 1950  
E. Werle
- 88 Werle, E. und Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.  
E. G. Erdös Pharmak. 223, 234 (1954)
- 89 Edery, H. und J. Physiol. (Lond.) 169, 568  
G. P. Lewis (1963)
- 90 Amundsen, E. und J. Pharmacol. 25, 67  
H. E. Nustad (1965)

- 91 Eisen, V. Proc. roy. Soc. Med. 59, 302 (1966)
- 92 Sicuteri, F.,  
M. Fanciullacci,  
P. L. Del Blanco und  
B. Anselm Boll. Soc. ital. sper. 41, 464  
(1965)
- 93 Hamberg, U. und Arch. int. Pharmacodyn. 110, 222  
M. Rocha e Silva (1957)
- 94 Deutsch, H. F. und J. biol. Chem. 216, 17  
C. R. Diniz (1955)
- 95 Werle, E. und Biochem. Z. 301, 429  
M. Grunz (1939)
- 96 Erdös, E. G. und Biochem. Pharmacol 12, 1193  
J. R. Wohler (1963 b)
- 97 Erdös, E. G., Biochem. Pharmacol. 13, 893  
E. M. Sloane und (1964 b)  
J. R. Wohler
- 98 Trautschold, I.,  
H. Fritz und  
E. Werle in: Hypotensive Polypeptides,  
E. G. Erdös, N. Back Springer Verlag 1966, S. 221  
und F. Sicuteri
- 99 Jensen, K. B., Acta Pharmacol. Toxicol. 20, 322  
A. M. Vennerød und (1963)  
O. K. Dyrud
- 100 Vogt, W., G. Garbe Arch. exper. Path. Pharmacol. 256, 127  
und G. Schmidt (1967)
- 101 Krammer, B. Inaug. Diss., Med. Fakultät München 1973
- 102 Margolis, J. und Austral. J. exp. Biol. 41/293 (1963)  
E. A. Bishop
- 103 Margolis, J. Ann. N. Y. Acad. Sc. 104, 133 (1963)



Herrn Prof. Dr. Dr. E. Werle danke ich für  
die Überlassung des Themas und des Arbeits-  
platzes sowie für die stets großzügige Unter-  
stützung bei der Ausführung der experimen-  
tellen Arbeit.

### Lebenslauf

Am 3.10.1941 wurde ich als zweites Kind des Walter Höh und seiner Ehefrau Else geb. Schäfer in Berlin geboren.

- |             |                                                                                                                                                                                    |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1948 - 1952 | Besuch der Volksschulen in Nürnberg und München                                                                                                                                    |
| 1952 - 1961 | Besuch der Oberrealschulen Max Josef-Stift und<br>St. Anna, München                                                                                                                |
| 1961        | Abitur an der Städt. Oberrealschule St. Anna, München                                                                                                                              |
| 1961        | Beginn des Medizinstudiums an der Universität<br>Nürnberg-Erlangen                                                                                                                 |
| 1967        | Ablegung der ärztlichen Prüfung an der Universität<br>München                                                                                                                      |
| 1967 - 1969 | Medizinalassistentenzeit in Gauting, Freising und<br>München                                                                                                                       |
| 1970        | Approbation und Beginn der Facharztausbildung an den<br>Anaesthesieabteilungen der Chir. Poliklinik, der Chir.<br>Univ.Klinik München und des Krankenhauses München-<br>Schwabing. |

Seit September 1949 ist mein Wohnsitz München.







